

Universidade de Lisboa  
Faculdade de Medicina Dentária



**Estudo *In Vitro* das forças de adesão à dentina  
de um Sistema Adesivo Universal  
pela técnica *Etch-and-rinse* quando aplicada uma  
camada adicional de resina hidrofóbica**

**Carolina Leitão Carvalho**

Dissertação  
Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**2016**

Universidade de Lisboa  
Faculdade de Medicina Dentária



**Estudo *In Vitro* das forças de adesão à dentina  
de um Sistema Adesivo Universal  
pela técnica *Etch-and-rinse* quando aplicada uma  
camada adicional de resina hidrofóbica**

**Carolina Leitão Carvalho**

Dissertação orientada pela Dr.<sup>a</sup> Ana Catarina Coito  
e co-orientada pelo Professor Doutor Alexandre Cavalheiro

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

**2016**





*“Sempre chegamos ao sítio aonde nos esperam”*

José Saramago

## Agradecimentos

Em primeiro lugar, à minha orientadora, Dr.<sup>a</sup> Ana Catarina Coito, pela disponibilidade, pelo gosto pela investigação que transmite, pela energia contagiante nas manhãs de laboratório, pela paciência e por rever a minha tese em contra-relógio.

Ao Professor Doutor Alexandre Cavalheiro pela impriscindível ajuda na análise estatística, esclarecimento de dúvidas e pronta resolução de problemas.

A todos os elementos do Departamento de Dentisteria Operatória da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, pelo conhecimento e entusiasmo transmitido ao longo dos últimos anos.

À Professora Doutora Sofia Arantes e Oliveira pelo incansável apoio dado nas questões relativas à disponibilização de instalações, materiais e equipamentos do Laboratório de Biomateriais da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa.

À Maria, a melhor companhia que poderia ter tido nas horas laboratoriais.

À Marta, à Patrícia, ao Kiko e ao Diogo, pela amizade, pelas madrugadas, pelas gargalhadas que não faltaram dia-a-dia.

Ao meu pai e à minha mãe, por me incentivarem a sonhar e me obrigarem a ter os pés bem assentes na terra, respetivamente; por serem o melhor abraço.

À minha irmã, a outra metade da tangerina.



# Índice

Abstract	xi
Resumo	xiii
I Revisão teórica	1
MECANISMO DE ADESÃO	2
ESTRATÉGIAS ADESIVAS CONTEMPORÂNEAS	3
<i>Etch-and-rinse (E&amp;R)</i>	3
<i>Self-etch (SE)</i>	4
Adesivos Universais (AU)	5
ESTUDOS LABORATORIAIS	6
Testes de força de adesão à microtração ( $\mu$ TBS) – Metodologia	6
II Objectivo	7
III Materiais e Métodos	8
1. Tipo de estudo	9
2. <i>Design</i> do estudo	9
3. Preparação da amostra	9
4. Distribuição e tratamento dos segmentos obtidos	13
5. Preparação dos <i>specimens</i> para os testes	16
6. Testes de força de adesão à microtração ( $\mu$ TBS)	17
7. Análise Estatística	18
IV Resultados	19
V Discussão	23
VI Conclusão	30
Limitações do presente estudo	30
VII Referências	xv
ANEXOS	xxii





## Lista de figuras

Figura 1. Diamond Wafering Blade 10,2cmx0,3mm - Series 15HC	10
Figura 2. Isomet™ 1000 Precision Saw, micrótopo de tecidos duros	10
Figura 3. Dente colado, com cera colante, em bloco de acrílico	11
Figura 4. Primeiro corte, realizado 1-2mm abaixo da UAC	11
Figura 5. Exposição da câmara pulpar após corte das raízes	11
Figura 6. Remoção dos tecidos pulpaes	12
Figura 7. Preenchimento da câmara pulpar com cola de cianoacrilato	12
Figura 8. Coroa fixada ao bloco de acrílico	12
Figura 9. Segundo corte	12
Figura 10. Superfície dentinária exposta	12
Figura 11. Lunn Major, máquina polidora	13
Figura 12. All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA)	15
Figura 13. ENAMEL Plus HRi (Micerium S.p.A. Avegno (GE) Italy)	15
Figura 14. Restauração em resina composta	15
Figura 15. Dente após ter sido seccionado segundo os eixos “x” e “y”	16
Figura 16. Dente após ter sido seccionado segundo os eixos “x” e “y”	16
Figura 17. Palitos obtidos após corte final	16
Figura 18. Palitos colados em suportes de Geraldeli, com cola de cianoacrilato	17
Figura 19. Instron® 4502 Series, máquina de teste universal	17
Figura 20. Craveira digital (Ficher Darex, France)	17
Figura 21. Estereomicroscópio (Nikon, Japan)	17

## Lista de tabelas e gráficos

Tabela 1. Descrição estatística da  $\mu$ TBS em MPa, para os dois grupos experimentais testados: Número de palitos por grupo (N); Valor médio da  $\mu$ TBS (Mean) e erro padrão (SE); Desvio-padrão (Std. Deviation) \_\_\_\_\_ 20

Tabela 2. Testes de normalidade da  $\mu$ TBS em MPa para os dois grupos experimentais testados. \_\_\_\_\_ 20

Tabela 3. Resultados do Teste de Levene e do *t-test*. \_\_\_\_\_ 21

Tabela 4. Distribuição de tipo de fratura. \_\_\_\_\_ 22

Tabela 5. Produtos e sua composição. \_\_\_\_\_ xxiii

Tabela 6. Palitos obtidos a partir de cada dente. \_\_\_\_\_ xxiv

Gráfico 1. Caixa-de-Bigodes da  $\mu$ TBS em MPa, no qual a linha central respresenta a mediana, para os dois grupos experimentais testados. \_\_\_\_\_ 20

Gráfico 2. Testes de normalidade da  $\mu$ TBS em MPa para os dois grupos experimentais testados. \_\_\_\_\_ 21

Gráfico 3. Testes de normalidade da  $\mu$ TBS em MPa para os dois grupos experimentais testados. \_\_\_\_\_ 21

Gráfico 4. Distribuição de tipo de fratura. \_\_\_\_\_ 22

## Abreviaturas

<b>AU</b>	Adesivos Universais
<b>ABU</b>	All-Bond Universal™ Adhesive
<b>cm</b>	centímetro
<b><i>et al.</i></b>	<i>et alli</i>
<b><i>E&amp;R</i></b>	<i>Etch-and-rinse</i>
<b>HAp</b>	Hidroxiapatite
<b>ISO/TR</b>	International Organization for Standardization/ Technical Report
<b>KN</b>	KiloNewton
<b>mm<sup>2</sup></b>	milímetro quadrado
<b>mm/min</b>	milímetro por minuto
<b>mW/cm<sup>2</sup></b>	miliWatt por centímetro quadrado
<b>MPa</b>	MegaPascal
<b><i>p</i></b>	nível de significância
<b><i>SE</i></b>	<i>Self-etch</i>
<b><i>TE</i></b>	<i>Total-etch</i>
<b>UAD</b>	União amelo-dentinária
<b>10-MDP</b>	10-metacriloiloxidecil dihidrogenofosfato
<b>μTBS</b>	Força de adesão à microtração
<b>μSBS</b>	Força de adesão ao microcisalhamento
<b>%</b>	porcentagem
<b>%vol</b>	porcentagem de volume



## Abstract

**Purpose:** The purpose of this *In vitro* experimental study is to compare, through microtensile bond strength testing ( $\mu$ TBS), the bond strength to dentin of one Multi-mode adhesive when applied according to the Etch-and-rinse technique, with and without the appliance of an hydrophobic resin coat.

**Methods:** Six recently extracted human third molars, intact and without macroscopic evidence of caries or restorations, were assigned to two groups: Group ABU TE – All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive (Bisco) when applied according to the Etch-and-rinse technique following manufacturer's instructions and Group ABU TE + A – when applied with an additional hydrophobic resin coat, namely, Adper<sup>TM</sup> Scotchbond<sup>TM</sup> Multi-Purpose (3M ESPE), following manufacturer's instructions. After resin composite build-ups were performed, the teeth were stored in distilled water in an incubator for 24 hours at 37°C. Specimens were sectioned with a slow-speed diamond saw under water irrigation to obtain bonded sticks that were tested to failure in a universal testing machine at a crosshead speed of 1mm/minute. The statistical analysis of the results was performed, via SPSS, with a paired-sample t-test when the assumption of normality was valid.

**Results:** The mean  $\mu$ TBS to dentin of the ABU TE ( $38,4 \pm 1,92$ ) was higher than of the ABU TE + A ( $33,0 \pm 1,59$ ), being the results statistically significant ( $p=0,03$ ).

**Conclusion:** Within the limitations of the present study, it may be concluded that the appliance of an hydrophobic resin coat does not improve the performance of All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive when applied according to the Etch-and-rinse technique following manufacturer's instructions. It is of notice the need for more evidence of the effect of a separate hydrophobic resin coat on the Multi-mode adhesives behavior, also regarding their long term bonding effectiveness.

**Keywords:** Adhesive dentistry, dental adhesives, Multi-mode adhesives, adhesion to dentin, microtensile bond strength testing



## Resumo

**Objectivo:** Este estudo experimental *In Vitro* foi realizado com o objectivo de comparar, através de testes de força de adesão à microtração ( $\mu$ TBS), as forças de adesão à dentina de um Sistema Adesivo Universal pela técnica *Etch-and-rinse*, com e sem aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica. A hipótese nula testada é que não existe diferença nas forças de adesão obtidas em ambos os grupos.

**Materiais e métodos:** Seis terceiros molares recentemente extraídos, intactos e sem evidência macroscópica de cárie ou restaurações, foram aleatoriamente distribuídos entre dois grupos: Grupo ABU TE – All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco) quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse* e Grupo ABU TE + A – quando aplicado com uma camada adicional de resina hidrofóbica, nomeadamente, Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose (3M ESPE), segundo as instruções do fabricante. Depois de restaurados com resina composta, os dentes foram armazenados em água destilada numa estufa de incubação durante 24h a 37°C. Os *specimens* foram seccionados com um disco diamantado a baixa velocidade, sob constante refrigeração com água, num micrótomo de tecidos duros. Os palitos obtidos foram testados a uma velocidade de 1mm/min até ocorrer fratura, numa máquina de teste univeral. A análise estatística dos resultados foi feita, utilizando o programa de *software* SPSS, através do teste paramétrico emparelhado *t-test*. Foram previamente verificadas a normalidade de distribuição de resultados e a igualdade de variâncias.

**Resultados:** A média da  $\mu$ TBS à dentina do ABU TE ( $38,4 \pm 1,92$ ) foi mais elevada comparativamente à do ABU TE + A ( $33,0 \pm 1,59$ ), sendo a diferença estatisticamente significativa ( $p=0,03$ ).

**Conclusão:** Tendo em conta as limitações deste estudo, pode-se concluir que a aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica não melhora a *performance* do All-Bond Universal™ Adhesive quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse*. A hipótese nula testada neste estudo foi rejeitada.

**Palavras-chave:** Dentisteria adesiva, adesivos dentários, Sistemas Adesivos Universais, adesão à dentina, forças de adesão à microtração.





## **I. Revisão teórica**

Os métodos mecânicos tradicionais para retenção de materiais restauradores têm vindo a ser trocados por métodos mais conservadores. Tradicionalmente, a retenção e estabilidade das restaurações requeria remoção de estrutura dentária sã, obrigando a preparações amplas, o que não se verifica necessário se utilizadas técnicas adesivas. (Van Meerbeek *et al.*, 1998)

As técnicas adesivas fazem-se acompanhar de grande sensibilidade e complexidade de aplicação, predispondo a erros de manipulação. Continuamente, fabricantes empenham-se na simplificação dos adesivos dentários em resposta à procura dos clínicos por opções cuja utilização seja *user-friendly* e menos demorada. (Tay & Pashley, 2003; Van Meerbeek *et al.*, 2003)

### MECANISMO DE ADESÃO

Em 1955, Buonocore introduziu a utilização de ácido fosfórico 85% para melhorar a retenção de resina acrílica ao esmalte. A natureza micromecânica da interação de adesivos dentários com o esmalte é o resultado da infiltração de monómeros de resina nas microporosidades criadas após condicionamento ácido e seguinte envolvimento dos cristais de hidroxiapatite (HAp) expostos com os monómeros polimerizados nos poros da superfície do esmalte. O derradeiro objectivo de uma restauração adesiva é promover a íntima adaptação do material restaurador ao substrato dentário. Esta tarefa é difícil de alcançar uma vez que o mecanismo de adesão ao esmalte é diferente do mecanismo de adesão à dentina. Enquanto o esmalte é composto em 96% do seu peso por HAp, a dentina é um composto biológico de cristais de apatite (50%) numa matriz de colagénico (30%), maioritariamente colagénico do tipo I. Esta matriz mineralizada é formada por odontoblastos que começaram a secretar colagénico na união amelo-dentinária (UAD) e, depois, cresceram centriptamente, arrastando processos odontoblásticos. A natureza húmida (20%vol de água) e orgânica da dentina faz com que a adesão a este substrato seja um desafio. (Pashley, 1996; Nakabayashi & Pashley, 1998; Perdigão, 2007; Perdigão, 2010) O mecanismo de adesão à dentina depende da penetração e infiltração de monómeros de resina na superfície dentinária condicionada a fim de criar interligações micromecânicas com o colagénico dentinário, o que, após polimerização, parece resultar numa homogénea mistura entre polímero e substrato, (Nakabayashi *et al.*, 1982) processo comumente referido como “hibridização”. Enquanto se acredita que a formação da camada híbrida seja pré-requisito para o sucesso da adesão em circunstâncias clínicas, a potencial mais-

valia de uma adicional interação química entre monómeros funcionais e componentes do substrato dentário recebe, actualmente, muita atenção. (Van Meerbeek *et al.*, 2003)

### ESTRATÉGIAS ADESIVAS CONTEMPORÂNEAS

Se um dente é preparado, com instrumentos rotatórios ou outros, a sua superfície é recoberta por uma camada aderente de detritos calcificados – *smear layer*. (Bowen *et al.*, 1984; Ishioka & Caputo, 1989) Estes detritos penetram nos túbulos dentinários e reduzem a permeabilidade da dentina em 86% (Pashley *et al.*, 1978), constituindo uma barreira física que deve ser dissolvida ou tornada permeável de forma a que os monómeros das formulações adesivas contactem directamente com a superfície dentinária. (Van Meerbeek *et al.*, 1992; Perdigão, 2007)

Independentemente do número de passos para a sua aplicação, os adesivos podem ser classificados consoante a estratégia de adesão (Van Meerbeek *et al.*, 2003), noutras palavras, dependendo de como interagem com a *smear layer*. (Perdigão, 2010)

#### ***Etch-and-rinse (E&R)***

Esta estratégia inclui adesivos que visam remover completamente a *smear layer* e os cristais mais superficiais de HAp através de condicionamento ácido, geralmente gel de ácido fosfórico 30-40% (Van Meerbeek *et al.*, 2003) aplicado simultaneamente no esmalte e na dentina – *Total-Etch (TE)*. (Van Meerbeek *et al.*, 1998) No esmalte, aumenta a área de superfície e a energia de superfície (Muñoz *et al.*, 2013); na dentina, este tratamento com ácido fosfórico expõe uma malha de colagénico microporosa, quase totalmente desprovida de HAp. (Van Meerbeek *et al.*, 2003) O colapso da malha de colagénico ao secar a dentina desmineralizada é prevenido mantendo a dentina húmida, o que é difícil de executar clinicamente, pois depende do solvente usado no material, (Reis *et al.*, 2003) bem como da interpretação das instruções do fabricante por parte do clínico. (Muñoz *et al.*, 2013) É uma estratégia que engloba um mínimo de 2 passos ou, na sua forma mais convencional, 3 passos. (Van Meerbeek *et al.*, 2003) *TE* de 3 passos incluem: condicionamento ácido e lavagem, aplicação de *primer* – o agente promotor da adesão, que contém monómeros com propriedades hidrofílicas para afinidade com o colagénico exposto e com propriedades hidrofóbicas para co-polimerização com a resina adesiva, e, por fim, aplicação de *bond* – a resina adesiva a ser polimerizada. Por sua vez, *TE* de 2 passos permitem, após condicionamento ácido e lavagem, a aplicação simultânea de *primer* e *bond*, sendo designados como adesivos *One-Bottle*. (Van

Meerbeek *et al.*, 1998; Perdigão, 2007) Com base na literatura, *TE* de 3 passos têm melhor *performance* laboratorial (Armstrong *et al.*, 2003) e clínica que *TE* de 2 passos. (Peumans *et al.*, 2005)

### ***Self-etch (SE)***

A fim de ultrapassar as discrepâncias entre profundidade de dentina desmineralizada e de infiltração de resina verificadas com adesivos *TE*, foi desenvolvida uma estratégia alternativa que se baseia na utilização de misturas aquosas de monómeros ácidos, geralmente estéres de ácido fosfórico ou ácido carboxílico, que condicionam e infiltram em simultâneo o substrato. (Perdigão, 2007) A *smear layer* torna-se permeável, mas não é completamente removida. (Perdigão, 2010) Eliminando a fase de lavagem pós-condicionamento ácido, a estratégia *SE* aparenta ser clinicamente mais promissora no que diz respeito a uma utilização *user-friendly*, não só permitindo encurtar o tempo clínico como reduzindo significativamente a sensibilidade da técnica. (De Munk *et al.*, 2005) Com *SE* de 2 passos é aplicado um *Self-etching primer*, seguindo-se aplicação da resina hidrofóbica e sua polimerização. Já nos *SE* de 1 passo, ou *All-in-one*, todos os componentes primários de um sistema adesivo (ácido, *primer* e *bond*) são incorporados numa única solução, o que aumentou a sua popularidade na prática clínica diária. (Perdigão, 2007) Porém, adesivos *SE* de 1 passo estão, geralmente, associados a baixa eficácia adesiva, atribuída, em parte, à dissolução de monómeros hidrofílicos e hidrofóbicos numa grande quantidade de solvente. A presença de até 40% de água na sua composição é essencial para promover a dissociação dos monómeros ácidos de metacrilato em formas ionizadas que vão permeabilizar tanto a *smear layer* como a dentina subjacente. (Van Meerbeek *et al.*, 2005; Van Landuyt *et al.*, 2007; Perdigão *et al.*, 2014) Devido à sua elevada hidrofiliidade, o comportamento dos *SE* de 1 passo tem sido comparado a membranas semi-permeáveis, permitindo a penetração de fluídos e prejudicando seriamente a durabilidade da adesão. (Van Meerbeek *et al.*, 2005) Os adesivos *SE* podem beneficiar de uma adicional interação química entre monómeros funcionais e HAp residual. (Yoshida *et al.*, 2004; Van Meerbeek *et al.*, 2005) Entre os monómeros funcionais actualmente utilizados, o 10-metacrililoiloxidecil dihidrogenofosfato (10-MDP), que interage com o cálcio na HAp, demonstrou grande eficácia e estável adesão à dentina, (Yoshida *et al.*, 2004; Inoue *et al.*, 2005) confirmada pela baixa taxa de dissolução dos seus sais de cálcio em água. (Yoshida *et al.*, 2004)

### Adesivos Universais (AU)

Mais recentemente, o Médico Dentista começou a utilizar novos adesivos consoante o seu próprio discernimento (Perdigão & Swift, 2015), visto estes permitirem versatilidade de adaptação à situação clínica. (Wagner *et al.*, 2014) Estes novos produtos, aos quais a literatura se refere como universais ou *Multi-mode*, podem ser utilizados como adesivos *Self-etch*, como adesivos *Etch-and-rinse*, ou como *Self-etch* na dentina e *Etch-and-rinse* no esmalte, esta última uma técnica comumente referida como “condicionamento selectivo do esmalte”. (Perdigão & Loguercio, 2014; Perdigão & Swift, 2015)

Se aplicados pela estratégia *SE*, os AU são basicamente *SE* de 1 passo, e, à semelhança dos *SE* de 1 passo, grande parte desta nova geração de adesivos contém monómeros de fosfato e/ou carboxilato específicos. Entre esses monómeros, o 10-MDP, que demonstrou ligar-se quimicamente à HAp – *nanolayering* (Perdigão & Loguercio, 2014), é hoje incluído na maioria dos AU. (Perdigão & Swift, 2015) Deposição de sais estáveis de MDP-Ca, a par do fenómeno de *nanonlayering*, poderão justificar a elevada estabilidade da adesão, provada em laboratório e em ensaios clínicos. (Yoshida *et al.*, 2012) Os AU irão provavelmente exibir um padrão semelhante de degradação hidrolítica à observada com outros adesivos simplificados. De facto, todos os AU contêm água na sua composição, essencial para ionização dos monómeros ácidos. Porém o excesso de água poderá reduzir a *performance* destes materiais, inibindo a co-polimerização dos monómeros adesivos e, conseqüentemente, comprometendo a estrutura final do polímero e suas propriedades mecânicas. (Perdigão *et al.*, 2014) Um dos passos críticos durante aplicação de qualquer adesivo à base de água, incluindo AU, é o tempo de evaporação do solvente aquando da aplicação do adesivo na dentina ou no esmalte. (Perdigão & Swift, 2015)

Actualmente, é defendida na literatura a vantagem da aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica para melhoria da *performance* dos *SE* 1 de passo (Perdigão *et al.*, 2014), sendo pouca a evidência científica disponível sobre se o mesmo se verifica com AU. Este estudo experimental *In Vitro* foi realizado com o intuito de avaliar a eventual vantagem da aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica nas forças de adesão à dentina de um Sistema Adesivo Universal, particularmente, no presente trabalho, quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse*.

## ESTUDOS LABORATORIAIS

O irrevogável método de teste para assegurar a eficácia das forças de adesão é por meio de um ensaio clínico. (De Munk *et al.*, 2005) As restrições temporais relativas à criação e gestão de um ensaio clínico com tudo o que este tipo de estudo implica, e a insuficiência de fundos industriais e independentes para este tipo de investigação, são as razões da sua escassez na literatura. Surgem constantemente novos adesivos dentários no mercado; formulações alteradas são muitas vezes lançadas como “novos adesivos” ainda antes das suas versões prévias serem clinicamente validadas. Como resultado das limitações dos ensaios clínicos, os Médicos Dentistas dependem da informação/dados de estudos laboratoriais a fim de prever o comportamento dos materiais adesivos. (Delbons *et al.*, 2015)

### Testes de força de adesão à microtração – Metodologia

Os testes de força de adesão à microtração ( $\mu$ TBS) parecem ser melhores a discriminar a *performance* dos materiais adesivos que os tradicionais testes de força de adesão ao microcisalhamento ( $\mu$ SBS) (Van Meerbeek *et al.*, 2010), tendo sido adoptados por muitos centros de investigação pela sua versatilidade, relativa simplicidade e autenticidade. Esta metodologia foi desenvolvida por Sano *et al.* (2004). Palitos de 0,5 a 1mm<sup>2</sup> de espessura são obtidos de conveniente modo a que as forças de tração se concentrem na interface adesiva durante o teste. Assim, permite obtenção de palitos com maior número de fraturas adesivas e menor número de fraturas coesivas. A partir de um único dente conseguem-se múltiplos *specimens* e, é possível medir a  $\mu$ TBS regionalmente. (Pashley *et al.*, 1999) Tem também as suas desvantagens: a necessidade de equipamento especial, o intensivo trabalho de laboratório, o cuidado a ter com a amostra, dado que os *specimens* facilmente desidratam e/ou se danificam, a dificuldade em medir  $\mu$ TBS <5MPa. (Pashley *et al.*, 1995; Armstrong *et al.*, 1998; Pashley *et al.*, 1999) É importante notar que o valor obtido não pode ser considerado uma propriedade do material. Valores de teste absolutos não podem ser usados para tirar conclusões sobre, ou para comparação de, dados recolhidos noutros estudos. Apenas resultados do estudo, no sentido de “A é melhor que B”, são base válida para interpretação. (De Munk *et al.*, 2005) A técnica detém grande potencial para permitir avaliar as forças de adesão dos materiais adesivos a substratos clinicamente relevantes. (Pashley *et al.*, 1999) O valor da  $\mu$ TBS à dentina *In vivo* diminui com o tempo. (Hashimoto *et al.*, 2000)

## **II.    Objetivo**



Este estudo experimental *In vitro* tem por objectivo:

- Avaliar as forças de adesão à dentina, através de testes de força de adesão à microtração, de um Sistema Adesivo Universal (All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive, Bisco, Schaumburg, IL, USA) quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse* e do mesmo Sistema Adesivo Universal quando aplicada uma camada adicional de resina hidrofóbica (Adper<sup>TM</sup> Scotchbond<sup>TM</sup> Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), segundo as instruções do fabricante, antes da polimerização;
  - Comparar os valores obtidos nos dois grupos.
- 
- A hipótese nula testada é que não existe diferença nas forças de adesão à dentina entre o Sistema Adesivo Universal (All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive, Bisco, Schaumburg, IL, USA) quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse* e o mesmo Sistema Adesivo Universal quando aplicada uma camada adicional de resina hidrofóbica (Adper<sup>TM</sup> Scotchbond<sup>TM</sup> Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), segundo as instruções do fabricante, antes da polimerização.

### **III. Materiais e Métodos**

### 1. Tipo de estudo

Estudo experimental *In vitro* com o objectivo de avaliar as forças de adesão à dentina de um Sistema Adesivo Universal quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse*.

### 2. Design do estudo

Uma amostra conveniente, composta por seis terceiros molares humanos recentemente extraídos, intactos e sem evidência macroscópica de cárie ou restaurações (n=6), foi aleatoriamente seleccionada a partir de um grupo de dentes armazenados numa solução de Cloramina T 0,5% (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) a 4°C durante uma semana e, de seguida, deixados em água destilada a 4°C, de acordo com as normas ISO/TR 11405, por um período não superior a 3 meses. Antes da sua preparação, todos os dentes foram lavados em água corrente e, com uma cureta, desprovidos de ligamento periodontal.

### 3. Preparação da amostra

A partir de cada dente foi obtido um segmento de coroa expondo a dentina, após realização de dois cortes paralelos à superfície oclusal e com alguns milímetros de distância, com um disco diamantado a baixa velocidade (Diamond Wafering Blade 10,2cmx0,3mm - Series 15HC, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) (Figura 1) sob constante refrigeração com água, num micrótopo de tecidos duros (Isomet™ 1000 Precision Saw, Buehler Ltd. Ltd., Lake Buff, IL, USA) (Figura 2), da seguinte forma:

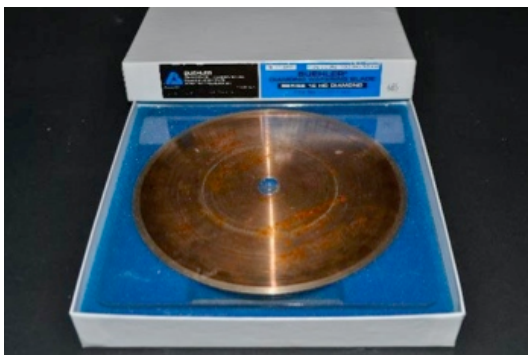


Figura 1. Diamond Wafering Blade  
10,2cmx0,3mm - Series 15HC



Figura 2. Isomet™ 1000 Precision Saw,  
micrótopo de tecidos duros

3.1 As coroas dos dentes foram coladas, perpendicularmente ao longo eixo do dente, em blocos de acrílico, com cera colante (Figura 3);

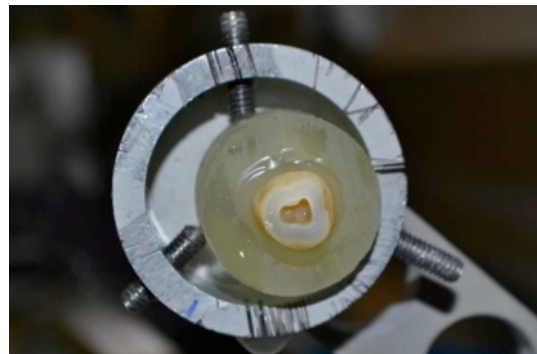
3.2 O primeiro corte, a fim de remover as raízes, foi realizado paralelamente à superfície oclusal, 1-2mm abaixo da união amelo-cementária (UAC) (Figuras 4 e 5);



*Figura 3. Dente colado, com cera colante, em bloco de acrílico*



*Figura 4. Primeiro corte, realizado 1-2mm abaixo da UAC*



*Figura 5. Exposição da câmara pulpar após corte das raízes*

3.3 As coroas foram separadas dos blocos de acrílico e os tecidos pulparem removidos da câmara pulpar com uma colher de dentina (Figura 6). A câmara pulpar foi, então, preenchida com cola de cianoacrilato (737 Black Magic Toughened adhesive, Permabond, Hampshire, UK) (Figura 7) e as coroas fixadas com a mesma cola aos blocos de acrílico pela superfície recentemente seccionada (Figura 8);



Figura 6. Remoção dos tecidos pulpaes

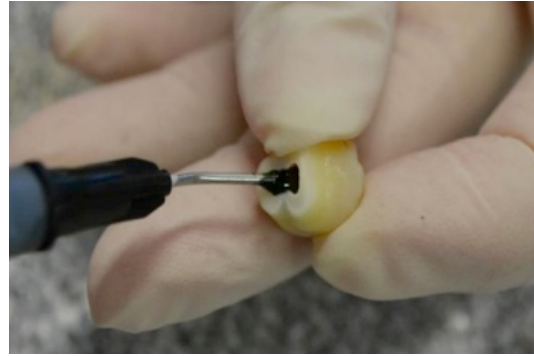


Figura 7. Preenchimento da câmara pulpar com cola de cianoacrilato

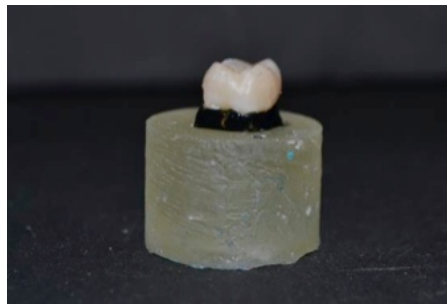


Figura 8. Coroa fixada ao bloco de acrílico

3.4 Perpendicularmente ao longo eixo do dente foi realizado o segundo corte, a fim de remover o esmalte oclusal e dentina superficial (Figuras 9 e 10);

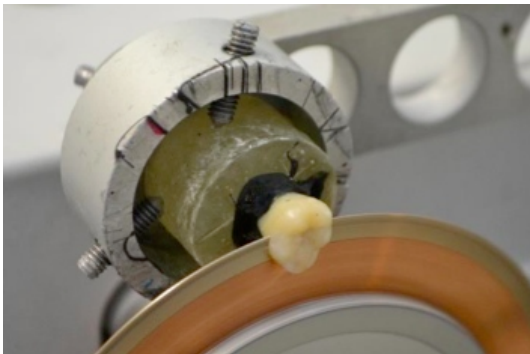


Figura 9. Segundo corte

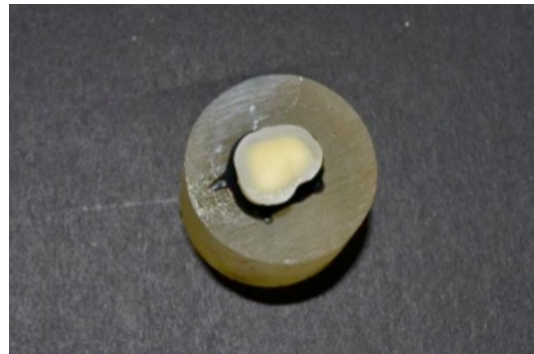


Figura 10. Superfície dentinária exposta

3.5 Com o objectivo de formar *smear layer* em condições semelhantes às que ocorrem clinicamente, a superfície dentinária foi polida com papel abrasivo de Carbetto de silício (SiC) de grão 600 (Ultra-Prep, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) numa máquina polidora (Lunn Major, Struers, Denmark) (Figura 11), segundo as normas ISO/TR 11405, durante 60 segundos sob irrigação com água destilada.

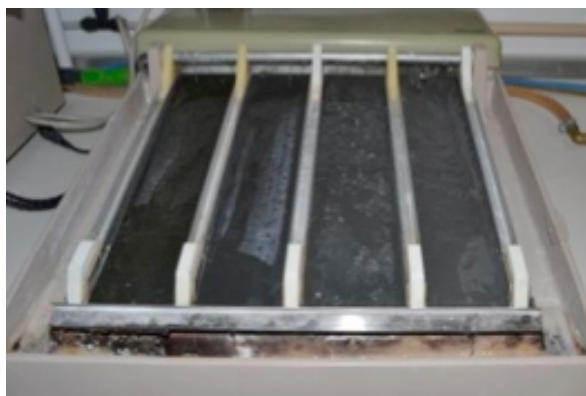


Figura 11. Lunn Major, máquina polidora

#### 4. Distribuição e tratamento dos segmentos obtidos

Posteriormente, os segmentos foram aleatoriamente distribuídos entre dois grupos. A ordem pela qual foram tratados foi aleatória, a fim de evitar viés devido a alguma particular sequência de tratamento. Cada procedimento foi realizado pelo mesmo operador:

- Procedimento adesivo

**Grupo A: All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA) aplicado segundo as instruções do fabricante pela técnica *Etch-and-rinse*, de condicionamento total ou *Total-etch* – (ABU TE)**

1. Lavou-se abundantemente a superfície com seringa de água e, utilizando gel de ácido fosfórico 32%, nomeadamente Scotchbond™ Universal Etchant (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), durante 15 segundos, procedeu-se ao condicionamento do esmalte e da dentina. Lavou-se abundantemente e removeu-se a água em excesso com um *pellet* absorvente, deixando a preparação visivelmente húmida.
2. Colocou-se 1 a 2 gotas de All-Bond Universal™ Adhesive num godet limpo. Colocou-se a tampa imediatamente no frasco de maneira a evitar a evaporação do solvente.
3. Aplicou-se duas camadas separadas de All-Bond Universal™ Adhesive, esfregando activamente a superfície com um *micro-brush* durante 10 a 15 segundos por camada. Não se fotopolimerizou entre camadas.
4. Utilizou-se seringa de ar, a uma distância de cerca de 10cm e a baixa pressão, aumentando a pressão à medida que se diminuiu a distância até perto de 1-2mm

- da superfície, para evaporação do solvente em excesso, durante, pelo menos, 10 segundos, não devendo após este período ser observado qualquer movimento visível do adesivo. Obteve-se uma superfície de aparência brilhante uniforme.
5. Fotopolimerizou-se durante 10 segundos, a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Germany).
  6. Colocou-se o material de restauração segundo as instruções do fabricante.

**Grupo B: All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA) aplicado segundo as instruções do fabricante pela técnica *Etch-and-rinse*, de condicionamento total ou *Total-etch* + Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA) – (ABU TE + A)**

1. Lavou-se abundantemente a superfície com seringa de água e, utilizando gel de ácido fosfórico 32%, nomeadamente Scotchbond™ Universal Etchant (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), durante 15 segundos, procedeu-se ao condicionamento do esmalte e da dentina. Lavou-se abundantemente e removeu-se a água em excesso com um *pellet* absorvente, deixando a preparação visivelmente húmida.
2. Colocou-se 1 a 2 gotas de All-Bond Universal™ Adhesive num godet limpo. Colocou-se a tampa imediatamente no frasco de maneira a evitar a evaporação do solvente.
3. Aplicou-se duas camadas separadas de All-Bond Universal™ Adhesive, esfregando activamente a superfície com um *micro-brush* durante 10 a 15 segundos por camada. Não se fotopolimerizou entre camadas.
4. Utilizou-se seringa de ar, a uma distância de cerca de 10cm e a baixa pressão, aumentando a pressão à medida que se diminuiu a distância até perto de 1-2mm da superfície, para evaporação do solvente em excesso, durante, pelo menos, 10 segundos, não devendo após este período ser observado qualquer movimento visível do adesivo. Obteve-se uma superfície de aparência brilhante uniforme.
5. Aplicou-se uma camada de adesivo Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose em toda a superfície com um aplicador descartável. Deixou-se uma fina e uniforme camada de adesivo, removendo o excesso com o mesmo aplicador e usando um suave jacto de ar.

6. Fotopolimerizou-se durante 10 segundos, a uma distância de 1-2mm da superfície, com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Germany).
7. Colocou-se o material de restauração segundo as instruções do fabricante.



*Figura 12. All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA)*

- Procedimento restaurador

De seguida, foi aplicada a resina composta ENAMEL Plus HRi (Micerium S.p.A. Avegno (GE) Italy) de cor UD4 (Figura 13) em camadas de aproximadamente 2mm, até perfazer uma altura de 6mm (Figura 14), fotopolimerizadas entre si durante 20 segundos, de acordo com as instruções do fabricante. As faces vestibular, lingual, mesial e distal foram polimerizadas adicionalmente por 10 segundos cada, a cada incremento.

A fotopolimerização foi efectuada a baixa intensidade  $600\text{mW}/\text{cm}^2$ , com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Germany).



*Figura 13. ENAMEL Plus HRi (Micerium S.p.A. Avegno (GE) Italy)*



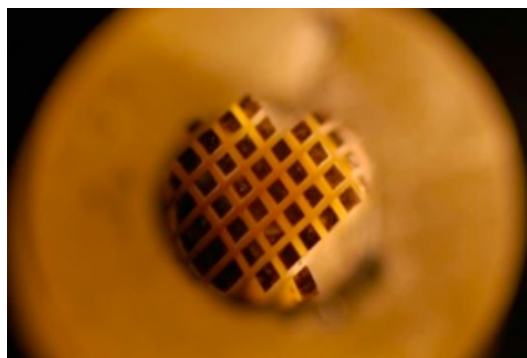
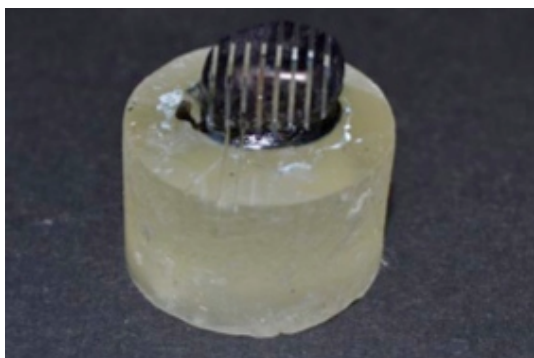
*Figura 14. Restauração em resina composta*



## 5. Preparação dos *specimens* para os testes

A superfície externa de todos os dentes foi pintada, com cores diferentes, com tinta à prova de água, com o objetivo de excluir do estudo os palitos nos quais a adesão foi feita em esmalte. Os dentes foram armazenados em água destilada numa estufa de incubação durante 24h a 37°C, de acordo com as normas ISO/TR 11405, e registado o dia e a hora da reconstrução. Posteriormente, através de secções longitudinais realizadas segundo os eixos “x” e “y” com um disco diamantado a baixa velocidade (Diamond Wafering Blade - 10,2cmx0,3mm - Series 15HC, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) (Figuras 15 e 16) sob constante refrigeração com água, num micrótopo de tecidos duros (Isomet<sup>TM</sup> 1000 Precision Saw, Buehler Ltd. Ltd., Lake Buff, IL, USA), obtiveram-se palitos com área aproximada de 1mm<sup>2</sup>. Foi realizado um corte final na base, perpendicular ao longo eixo do dente, para separar os palitos do bloco de acrílico. (Figura 17)

Palitos descolados, que correspondem aos que se separaram na interface adesiva enquanto seccionados segundo os eixos “x” e “y”, e perdidos foram registados. Os palitos foram mantidos em água destilada, por um período máximo de 24h, até conclusão dos testes de microtração.



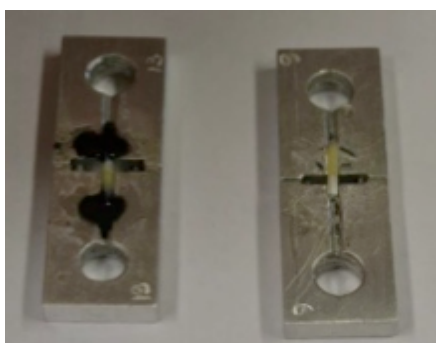
*Figuras 15 e 16. Dente após ter sido seccionado segundo os eixos “x” e “y”*



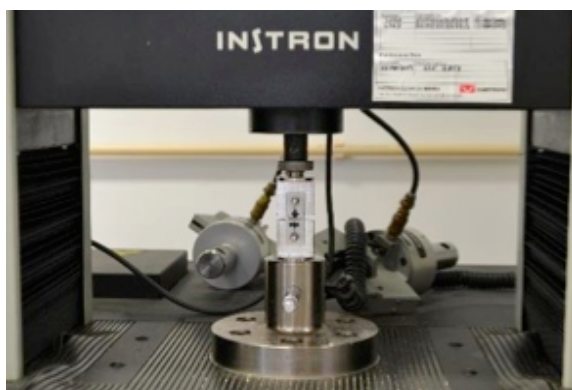
*Figura 17. Palitos obtidos após corte final*

## 6. Testes de força de adesão à microtração ( $\mu$ TBS)

Cada palito foi colado num suporte de Geraldeli, com cola de cianoacrilato (737 Black Magic Toughened adhesive, Permabond, Hampshire, UK) (Figura 18), e testado individualmente para avaliar as forças de adesão (MPa) à dentina utilizando testes de força de adesão à microtração ( $\mu$ TBS) numa máquina de teste universal (Instron® 4502 Series, Serial no. H3307, Instron Corporation, Canton, MA, USA) (Figura 19) a uma velocidade de 1mm/min até ocorrer fratura. Com uma craveira digital (Ficher Darex, France) foram medidas as arestas dos palitos para calcular a área de adesão ( $\text{mm}^2$ ). (Figura 20) As forças de adesão à microtração ( $\mu$ TBS) foram calculadas a partir da divisão entre a força (KN) no momento da fratura e a área de cada palito. O tipo de fratura foi analisada, pelo mesmo observador, utilizando um estereomicroscópio (Nikon, Japan) (Figura 21) com ampliação de 10x e classificada em: (A) – adesiva (fratura que ocorre na interface adesivo/compósito); (CC) ou (CD) – coesiva de compósito ou de dentina (fratura que ocorre exclusivamente no compósito ou na dentina, respetivamente); ou (M) – mista (fratura que envolve a dentina e o compósito).



*Figura 18. Palitos colados em suportes de Geraldeli, com cola de cianoacrilato*



*Figura 19. Instron® 4502 Series, máquina de teste universal*



*Figura 20. Craveira digital (Ficher Darex, France)*



*Figura 21. Estereomicroscópio (Nikon, Japan)*

## **7. Análise Estatística**

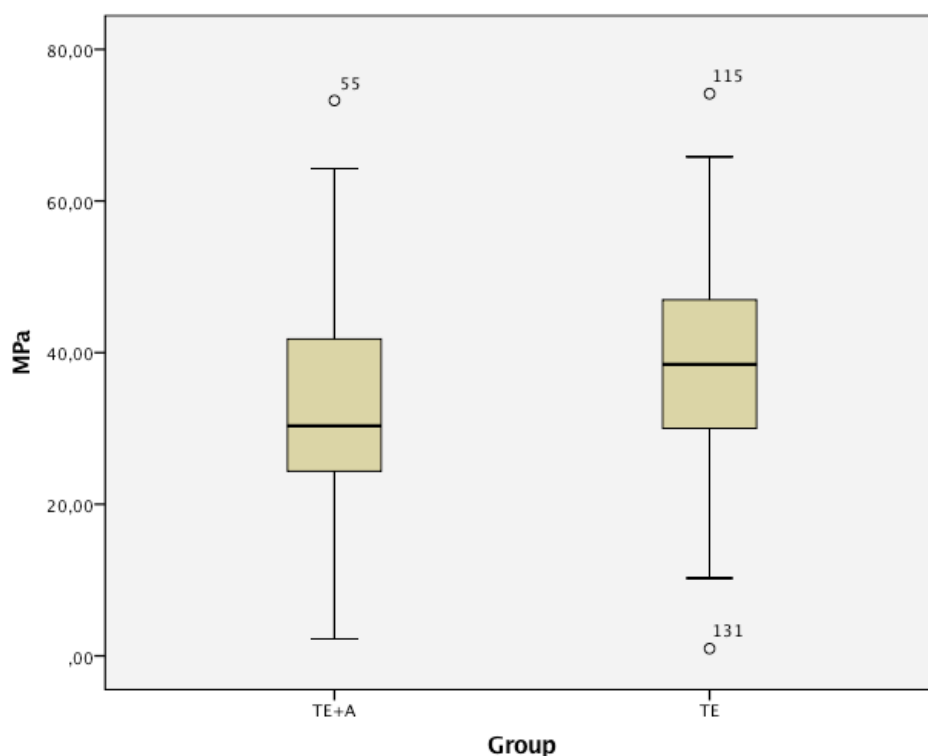
A análise estatística dos resultados foi feita, utilizando o programa de *software* SPSS Statistics for MAC Version 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), através do teste paramétrico emparelhado *t-test*. Previamente, os testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk foram utilizados para avaliar se os resultados seguiam uma distribuição normal. A fim de verificar a igualdade de variâncias foi executado o Teste de Levene. O intervalo de confiança definido foi de 95%.

O número de palitos descolados e perdidos, em cada grupo de teste, aquando da preparação, foi registado, porém não incluído para análise estatística.

## **IV. Resultados**

	Group	N	Mean $\pm$ SE	Std. Deviation
MPa	ABU TE	57	38,4 $\pm$ 1,92	14,470
	ABU TE + A	78	33,0 $\pm$ 1,59	14,015

**Tabela 1.** Descrição estatística da  $\mu$ TBS em MPa, para os dois grupos experimentais testados: Número de palitos por grupo (N); Valor médio da  $\mu$ TBS (Mean) e erro padrão (SE); Desvio-padrão (Std. Deviation)

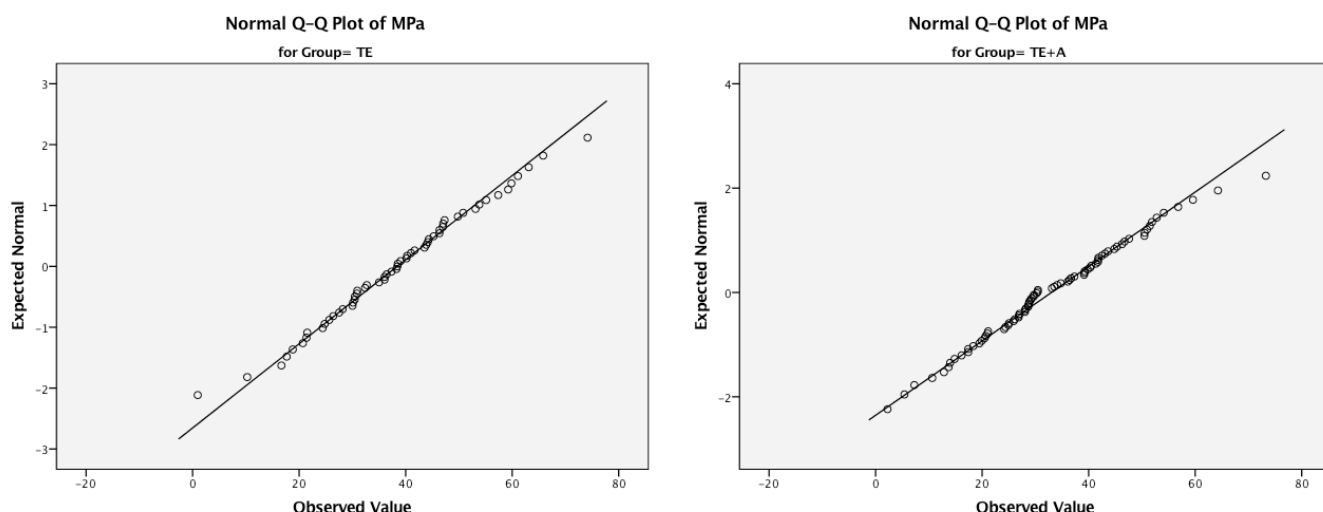


**Gráfico 1.** Caixa-de-Bigodes da  $\mu$ TBS em MPa, no qual a linha central representa a mediana, para os dois grupos experimentais testados.

Os testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk (Tabela 2) foram utilizados para avaliar se os resultados seguiam uma distribuição normal.

Group	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ABU TE	0,059	57	0,200	0,996	57	1,000
ABU TE + A	0,098	78	0,061	0,991	78	0,865

**Tabela 2.** Testes de normalidade da  $\mu$ TBS em MPa para os dois grupos experimentais testados.



**Gráficos 2 e 3.** Testes de normalidade da  $\mu$ TBS em MPa para os dois grupos experimentais testados.

A fim de verificar a igualdade de variâncias foi executado o Teste de Levene. Após verificadas a normalidade de distribuição de resultados e a igualdade de variâncias, foi executado o teste paramétrico emparelhado *t-test*.

		Levene's Test		<i>t-test</i>			
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference
MPa	Equal variances assumed	0,001	0,980	- 2,180	133	0,03	- 5,39732
	Equal variances not assumed			- 2,169	118,569	0,03	- 5,39732

**Tabela 3.** Resultados do Teste de Levene e do *t-test*.

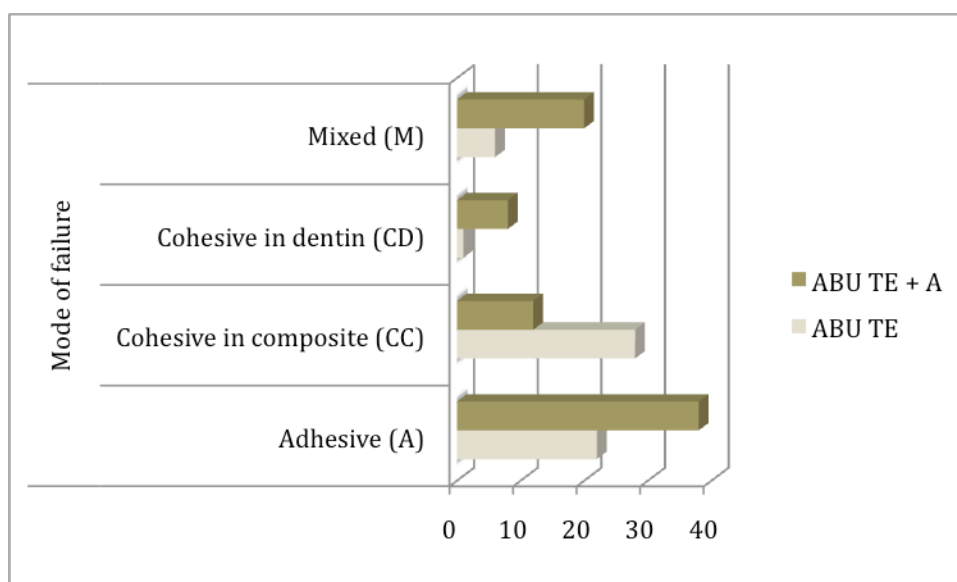
A média da  $\mu$ TBS à dentina obtida quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA) pela técnica *Etch-and-rinse* (ABU TE =  $38,4 \pm 1,92$ ) foi mais elevada comparativamente à obtida quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA) pela técnica *Etch-and-rinse* com uma camada adicional de resina hidrofóbica, nomeadamente, Adper<sup>TM</sup> Scotchbond<sup>TM</sup> Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), segundo as instruções do fabricante, antes da polimerização (ABU TE + A =  $33,0 \pm 1,59$ ). Sendo o valor de *p* inferior a 0,05 (*p*=0,03) (Tabela 3), a diferença é estatisticamente significativa.

A distribuição de tipo de fratura, após testes, nos dois grupos experimentais testados, é apresentada na Tabela 4 e ilustrada no Gráfico 4.

ABU TE apresenta maior número de fraturas coesivas de compósito (CC) e ABU TE + A apresenta maior número de fraturas adesivas (A).

	Mode of failure				Total
	Adhesive (A)	Cohesive in composite (CC)	Cohesive in dentin (CD)	Mixed (M)	
ABU TE	22	28	1	6	57
ABU TE + A	38	12	8	20	78

**Tabela 4.** Distribuição de tipo de fratura.



**Gráfico 4.** Distribuição de tipo de fratura.

## **V. Discussão**



Uma nova família de adesivos dentários, aos quais a literatura se refere como universais ou *Multi-mode*, foi recentemente introduzida. O All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA) pertence a esta nova família de adesivos. A versatilidade destes novos adesivos permite ao Médico Dentista decidir a estratégia a utilizar, consoante a situação clínica com que se depara, preconizando a utilização da forma mais simples de cada estratégia, isto é, *TE* de 2 passos ou *SE* de 1 passo. (Perdigão *et al.*, 2014)

No presente estudo, a amostra aleatoriamente seleccionada é composta por dentes armazenados numa solução de Cloramina T 0,5% a 4°C durante uma semana e, de seguida, deixados em água destilada a 4°C, de acordo com as normas ISO/TR 11405, por um período não superior a 3 meses. Noutros estudos disponíveis na literatura verificou-se um processo de armazenamento semelhante. (De Munk *et al.*, 2003; Marchesi *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2014; Perdigão *et al.*, 2014; Shibata *et al.*, 2016)

Na maioria dos estudos experimentais *In vitro* de adesão à dentina, é utilizado papel abrasivo de Carbetto de silício (SiC) para preparação da superfície da amostra (Pashley *et al.*, 1995), sendo que, embora conveniente a sua utilização em laboratório, na clínica são utilizados instrumentos rotatórios para preparação dentária. No estudo de Tagami *et al.* (1991), embora as forças de adesão à *smear layer* formada após polimento com papel abrasivo sejam inferiores às forças de adesão à *smear layer* formada após preparação com broca diamantada, não foi verificada uma diferença estatisticamente significativa. Este estudo veio apoiar os resultados previamente relatados, de semelhantes forças de adesão à *smear layer* quando formada após preparação com instrumentos rotatórios ou após polimento com papel abrasivo de Carbetto de silício (SiC), por Tao & Pashley (1988). No presente estudo, a superfície dentinária foi polida com papel abrasivo de Carbetto de silício (SiC) de grão 600 (Ultra-Prep, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) numa máquina polidora (Lunn Major, Struers, Denmark) segundo as normas ISO/TR 11405, durante 60 segundos sob irrigação com água destilada. Noutros estudos a preparação da superfície da amostra foi realizada de forma idêntica. (De Munk, *et al.*, 2003; Marchesi *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2014; Perdigão *et al.*, 2014; Shibata *et al.*, 2016)

No presente estudo, o procedimento adesivo, descrito em pormenor nos Materiais e Métodos do trabalho, foi executado pelo mesmo operador em ambos os grupos experimentais testados, sendo Grupo A: (ABU TE) e Grupo B: (ABU TE + A). A camada adicional de resina hidrofóbica aplicada no Grupo B corresponde à resina

adesiva do TE de 3 passos Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA), que já demonstrou em estudos clínicos que confere excelentes resultados num período de 3 anos. (Van Meerbeek *et al.*, 1996; Ozgünaltay *et al.*, 2002) De seguida, foi aplicada a resina composta ENAMEL Plus HRi (Micerium S.p.A. Avegno (GE) Italy) de cor UD4 em camadas de aproximadamente 2mm, até perfazer uma altura de 6mm, fotopolimerizadas entre si durante 20 segundos, de acordo com as instruções do fabricante. As faces vestibular, lingual, mesial e distal foram polimerizadas adicionalmente por 10 segundos cada, a cada incremento. A fotopolimerização foi efectuada a baixa intensidade  $600 \text{ mW/cm}^2$ , com um fotopolimerizador Elipar S10 (3M ESPE Seefeld, Germany).

Com o contínuo desenvolvimento de adesivos dentários, forças de adesão à dentina mais elevadas, na ordem dos 20-30MPa (Swift *et al.*, 1995), começaram a ser resultados frequentemente obtidos em estudos experimentais *In vitro*. Simultaneamente, um maior número de fraturas coesivas de dentina viria a ser demonstrada, não significando que a adesão seja mais forte que a força intrínseca da dentina mas que o *stress* sobre a interface adesiva não é uniforme, estando concentrado em regiões localizadas. (Pashley *et al.*, 1995) A possibilidade de medir forças de adesão à dentina mais elevadas sem grande número de fraturas coesivas de dentina foi uma das várias vantagens enumeradas relativas à metodologia de teste descrita por Sano *et al.* (1994). Mais recentemente, Ghassemieh (2008) comparou a distribuição do *stress* em 3 diferentes tipos de *specimens*: palito, forma de haltere e de ampulheta. Concluiu que nos palitos a distribuição de *stress* é menos localizada que nas outras geometrias, assim pressupondo um menor número de fraturas coesivas de dentina quando estes são utilizados. No presente estudo, os dentes foram longitudinalmente seccionados, segundo os eixos “x” e “y”, obtendo-se palitos com cerca de  $1\text{mm}^2$ , previamente estudados e apontados como mais fáceis de preservar, manipular e com uma distribuição de *stress* uniforme. (Poitevin *et al.*, 2008). Nos resultados obtidos no presente estudo, as fraturas coesivas de dentina (CD) representam uma pequena percentagem da amostra (6,66%). As fraturas adesivas (A), como seria de esperar, representam a maior percentagem da amostra (44,44%), sendo o tipo de fratura que se verifica em maior número no Grupo B – ABU TE + A (A=38/78). Quando somadas às fraturas mistas (M), estas perfazem 63,70% da amostra. Contudo, no Grupo A as fraturas coesivas de compósito (CC) surgem em maior número – ABU TE (CC=28/57), sendo que no total representam uma considerável percentagem da amostra (29,63%).

Foram semelhantes os resultados obtidos anteriormente, sugerindo que o tempo de polimerização da resina composta recomendado pelo fabricante (20 segundos) é inferior ao ideal. (Silva, 2008; Pequeno, 2009). Também para a resina composta ENAMEL Plus HRi (Micerium S.p.A. Avegno (GE) Italy), utilizada no presente estudo, o tempo de polimerização recomendado pelo fabricante é de 20 segundos. Apesar das faces vestibular, lingual, mesial e distal terem sido polimerizadas adicionalmente por 10 segundos cada, a cada incremento, para além dos 20 segundos recomendados pelo fabricante, registou-se um elevado número de fraturas coesivas de compósito (CC). Assim, pode especular-se que a polimerização não alcança camadas mais centrais do compósito, presumindo-se irrelevante a adicional polimerização de cada face, a cada incremento, para prevenção de fraturas coesivas de compósito.

Não está definida qual a interpretação mais correta das falhas pré-teste, o que leva, ainda, a debate em reuniões científicas. Existem estudos que consideram que: (1) o valor de 0MPa deve ser atribuído aos *specimens* contabilizados como falhas pré-teste, o que penaliza severamente os resultados; (2) os *specimens* devem ser excluídos do cálculo da média; (3) que lhes deve ser atribuído o valor mais baixo obtido com o respetivo grupo. (Mine *et al.*, 2009; Van Meerbeek *et al.*, 2010) É de salientar que a exclusão pode gerar valores sobreestimados. (Wagner *et al.*, 2014) No presente estudo, as falhas pré-teste, nomeadamente palitos descolados e perdidos, em cada grupo de teste, aquando da preparação, foram registadas, porém não incluídas para análise estatística, assim como aconteceu noutros estudos. (Marchesi *et al.*, 2014; Perdigão *et al.*, 2014) No estudo de Muñoz *et al.* (2014) as falhas pré-teste foram contabilizadas, sendo atribuído aos *specimens* o valor de 0MPa. A fim de evitar as falhas pré-teste, a preparação da amostra deve ser o mais atraumática possível; uma medida descrita na literatura é a utilização de alginato ou gipsita para preenchimento dos espaços criados à medida que os dentes são longitudinalmente seccionados, segundo os eixos “x” e “y”. (Mine *et al.*, 2009; Van Meerbeek *et al.*, 2010; Walter *et al.*, 2012)

Uma vez que é estatisticamente significativa ( $p=0,03$ ) a diferença nas forças de adesão à dentina entre o Sistema Adesivo Universal (All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive, Bisco, Schaumburg, IL, USA) quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse* e o mesmo Sistema Adesivo Universal quando aplicada uma camada adicional de resina hidrofóbica (Adper<sup>TM</sup> Scotchbond<sup>TM</sup> Multi-Purpose, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA), segundo as instruções do fabricante, antes da polimerização, a hipótese nula testada neste trabalho foi rejeitada.

No estudo de De Munk *et al.* (2003) foram testadas as hipóteses a) que tanto adesivos *TE* de 3 passos como adesivos *TE* de 2 passos resistem à degradação e b) que uma camada adjacente de adesivo proteja a adesão à dentina, sendo a  $\mu$ TBS à dentina comparada ao fim de 4 anos de armazenamento em água. Exposição directa à água resultou na diminuição da  $\mu$ TBS dos *TE* de 2 passos mas não dos *TE* de 3 passos, sendo, assim, rejeitada a primeira hipótese. A segunda hipótese não foi rejeitada: o adesivo demonstrou ter um papel protetor contra a degradação.

No estudo de Sezinando *et al.* (2012) foram comparados 4 grupos de adesivos do mesmo fabricante: *TE* de 3 passos, *TE* de 2 passos, *SE* de 2 passos e *SE* de 1 passo, após um período de armazenamento em água de 6 meses. A média da  $\mu$ TBS de adesivos com uma separada camada de resina adesiva hidrofóbica foi mais elevada, resultado que vai de encontro ao obtido por De Munk *et al.* (2011), que após 12 meses de armazenamento da amostra em água, verificou forças de adesão na ordem dos 25MPa ou mais para adesivos com uma separada camada adesiva em contraste com forças de adesão de 8-13MPa para adesivos que combinam *primer* e *bond*.

Posto isto, de acordo com a literatura actualmente disponível, os adesivos dentários com uma separada camada de resina previnem de forma mais eficaz a degradação da interface adesiva comparativamente aos adesivos dentários sem uma separada camada de resina, independentemente da estratégia utilizada. (De Munk *et al.*, 2003; De Munk *et al.*, 2011; Sezinando *et al.*, 2012) No presente estudo, a média da  $\mu$ TBS à dentina do grupo ABU *TE* foi mais elevada comparativamente à média da  $\mu$ TBS do grupo ABU *TE* + A, não estando, portanto, em concordância com os estudos acima mencionados.

Contudo, os testes de força de adesão à microtração foram realizados num período de 24h após armazenamento dos palitos em água, sendo, por isso, válido considerar os resultados obtidos como valores de  $\mu$ TBS “imediata”. Com isto em mente, é de realçar a necessidade de mais estudos a longo prazo, com período de armazenamento da amostra em água por vários meses. O armazenamento da amostra em água por vários meses é apontado como método artificial importante para promoção da degradação da interface adesiva por hidrólise, especialmente se os *specimens* forem individualmente armazenados. Visa aumentar a previsibilidade da *performance* clínica do adesivo testado. (De Munk *et al.*, 2005; Heintze *et al.*, 2011; Sezinando *et al.*, 2012)

Por outro lado, no estudo de Perdigão *et al.* (2014) é avaliada a  $\mu$ TBS de um sistema *Multi-Mode*, G-Bond™ Plus (GC Corporation, Tokyo, Japan), aplicado pela estratégia *TE* e *SE*, com e sem aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica (Heliobond, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). A conclusão deste estudo foi que a aplicação da camada adesiva adicional resultou em média mais elevada, e estatisticamente significativa, da  $\mu$ TBS à dentina quando aplicado o adesivo pela estratégia *SE*, mas não quando pela estratégia *TE*.

Também no estudo de Muñoz *et al.* (2014) a *performance/comportamento* de Sistemas Adesivos Universais foi avaliada quando aplicada uma camada adesiva adicional e dependeu da estratégia adesiva. Neste estudo foram testados 12 grupos consoante diferente combinação de factores: 3 Sistemas Adesivos Universais (All-Bond Universal™ [ABU]; G-Bond™ Plus [GBP] e Scotchbond™ Universal [SBU]), pelas duas estratégias (*TE* e *SE*), com e sem aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica (Heliobond, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). A aplicação da camada adesiva adicional resultou em média mais elevada da  $\mu$ TBS apenas nos grupos de adesivos aplicados pela estratégia *SE*. Nos grupos de adesivos aplicados pela estratégia *TE* foi obtida média de  $\mu$ TBS mais elevada sem aplicação da camada adesiva adicional; particularmente com ABU *TE* ( $p=0,0001$ ), o Sistema Adesivo Universal também testado no presente estudo.

Sumariando, Muñoz *et al.* (2014) e Perdigão *et al.* (2014) corroboram os resultados obtidos no presente estudo, que levaram à rejeição da hipótese nula ( $p=0,03$ ).

Por ser um tema com pouca evidência científica disponível, a realização de estudos experimentais *In vitro* com outros Sistemas Adesivos Universais, pela técnica *TE* e *SE*, com e sem uma camada adicional de resina hidrofóbica é necessária e de incentivar.

O estudo *In vitro* não permite extrapolação para uma situação *In vivo*, e como tal também os resultados obtidos *In vivo* devem ser objecto de investigação. E ainda, estudos de adesão à dentina esclerótica cervical e à dentina afectada por cárie devem ser realizados no futuro com o intuito de confirmar/aperfeiçoar técnicas de adesão nestes substratos que clinicamente são tão relevantes.

## **VI. Conclusão**

A conclusão retirada deste estudo experimental *In vitro* é que a aplicação de uma camada adicional de resina hidrofóbica não melhora a *performance* do All-Bond Universal<sup>TM</sup> Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA) quando aplicado, segundo as instruções do fabricante, pela técnica *Etch-and-rinse*.

- A hipótese nula foi rejeitada ( $p=0,03$ ).

### **Limitações do presente estudo**

Os testes de força de adesão à microtração foram realizados num período de 24h após armazenamento dos palitos em água. Com isto em mente, é de realçar a necessidade de mais estudos a longo prazo, com período de armazenamento da amostra em água por vários meses, a fim de aumentar a previsibilidade da *performance* clínica do adesivo testado.

Por ser um tema com pouca evidência científica disponível, a realização de estudos experimentais *In vitro* com outros Sistemas Adesivos Universais, pela técnica *TE* e *SE*, com e sem uma camada adicional de resina hidrofóbica é necessária e de incentivar.

O estudo *In vitro* não permite extrapolação para uma situação *In vivo*, e como tal também os resultados obtidos *In vivo* devem ser objecto de investigação. E ainda, estudos de adesão à dentina esclerótica cervical e à dentina afectada por cárie devem ser realizados no futuro com o intuito de confirmar/aperfeiçoar técnicas de adesão nestes substratos que clinicamente são tão relevantes.

## **VII. Referências**



Armstrong SR, Boyer DB, Keller JC. Microtensile bond strength testing and failure analysis of two dentin adhesives. *Dent Mater*. 1998 Jan;14(1):44-50.

Armstrong SR, Vargas MA, Fang Q, Laffoon JE. Microtensile bond strength of a total-etch 3-step, total-etch 2-step, self-etch 2-step, and a self-etch 1-step dentin bonding system through 15-month water storage. *J Adhes Dent*. 2003 Spring;5(1):47-56.

Bowen RL, Eick JD, Henderson DA, Anderson DW. Smear layer: removal and bonding considerations. *Oper Dent Suppl*. 1984;3:30-4.

De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res*. 2003 Feb;82(2):136-40.

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res*. 2005 Feb;84(2):118-32.

De Munck J, Mine A, Vivan Cardoso M, De Almeida Neves A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Van Meerbeek B. Effect of dentin location and long-term water storage on bonding effectiveness of dentin adhesives. *Dent Mater J*. 2011;30(1):7-13.

Delbons FB, Perdigão J, Araujo E, Melo Freire CA, Caldas DD, Cardoso JL, Pagani M, Borges GA, Lima RB. Randomized clinical trial of four adhesion strategies in posterior restorations-18-month results. *J Esthet Restor Dent*. 2015 Mar-Apr;27(2):107-17.

Ghassemieh E. Evaluation of sources of uncertainties in microtensile bond strength of dental adhesive system for different specimen geometries. *Dent Mater*. 2008 Apr;24(4):536-47.

Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res*. 2000 Jun;79(6):1385-91.

Heintze SD, Zimmerli B. Relevance of in vitro tests of adhesive and composite dental materials. A review in 3 parts. Part 3: in vitro tests of adhesive systems. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2011;121(11):1024-40.

Inoue S, Koshiro K, Yoshida Y, De Munck J, Nagakane K, Suzuki K, Sano H, Van Meerbeek B. Hydrolytic stability of self-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2005 Dec;84(12):1160-4.

International Standardization Organization (2003). Technical specification ISO/TS 11405. Dental materials – Testing of adhesion to tooth structure: 1-6.

Ishioka S, Caputo AA. Interaction between the dentinal smear layer and composite bond strength. *J Prosthet Dent.* 1989 Feb;61(2):180-5.

Marchesi G, Frassetto A, Mazzoni A, Apolonio F, Diolosa M, Cadenaro M, Di Lenarda R, Pashley DH, Tay F, Breschi L. Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-year in vitro study. *J Dent.* 2014, 42(5):603-12.

Mine A, De Munck J, Cardoso MV, Van Landuyt KL, Poitevin A, Kuboki T, Yoshida Y, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding effectiveness of two contemporary self-etch adhesives to enamel and dentin. *J Dent.* 2009 Nov;37(11):872-83.

Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent.* 2013 May;41(5):404-11.

Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH, Perdigão J. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent.* 2014 May;42(5):595-602.

Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982 May;16(3):265-73.

Nakabayashi N, Pashley DH. Hybridization of dental hard tissues. Chicago: Quintessence Publishing; 1998. p. 65–7.

Ozgünlaltay G, Onen A. Three-year clinical evaluation of a resin modified glass-ionomer cement and a composite resin in non-carious class V lesions. J Oral Rehabil. 2002 Nov;29(11):1037-41.

Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD. Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro. Arch Oral Biol. 1978;23(9):807-10.

Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. Dent Mater. 1995 Mar;11(2):117-25.

Pashley DH. Dynamics of the pulpo-dentin complex. Crit Rev Oral Biol Med. 1996;7(2):104-33.

Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. J Adhes Dent. 1999 Winter;1(4):299-309.

Pequeno A. Efeito da alteração do modo de aplicação de um adesivo etch-and-rinse nas forças de adesão (dissertação). Lisboa: Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz; 2009.

Perdigão J. New developments in dental adhesion. Dent Clin North Am. 2007 Apr;51(2):333-57, viii.

Perdigão J. Dentin bonding-variables related to the clinical situation and the substrate treatment. Dent Mater. 2010 Feb;26(2):e24-37.

Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez IV, Staichak R, Reis A, Loguercio AD. Immediate adhesive properties to dentin and enamel of a universal adhesive associated with a hydrophobic resin coat. Oper Dent. 2014 Sep-Oct;39(5):489-99.

Perdigão J, Loguercio AD. Universal or Multi-mode Adhesives: Why and How? J Adhes Dent. 2014 Apr;16(2):193-4.

Perdigão J, Swift EJ Jr. Universal Adhesives. J Esthet Restor Dent. 2015 Nov-Dec;27(6):331-4.

Peumans M, Kanumilli P, De Munck J, Van Landuyt K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: a systematic review of current clinical trials. Dent Mater. 2005 Sep;21(9):864-81.

Poitevin A, De Munck J, Van Landuyt K, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Critical analysis of the influence of different parameters on the microtensile bond strength of adhesives to dentin. J Adhes Dent. 2008 Feb;10(1):7-16.

Reis A, Loguercio AD, Azevedo CL, de Carvalho RM, da Julio Singer M, Grande RH. Moisture spectrum of demineralized dentin for adhesive systems with different solvent bases. J Adhes Dent. 2003 Fall;5(3):183-92.

Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. Dent Mater. 1994 Jul;10(4):236-40.

Sezinando A, Perdigão J, Regalheiro R. Dentin bond strengths of four adhesion strategies after thermal fatigue and 6-month water storage. J Esthet Restor Dent. 2012 Oct;24(5):345-55.

Shibata S, Vieira LC, Baratieri LN, Fu J, Hoshika S, Matsuda Y, Sano H. Evaluation of microtensile bond strength of self-etching adhesives on normal and caries-affected dentin. Dent Mater J. 2016;35(2):166-73.

Silva A. Efeito do tempo de polimerização nas forças de adesão entre a dentina e as resinas compostas (dissertação). Lisboa: Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz; 2008.

Swift EJ Jr, Perdigão J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int.* 1995 Feb;26(2):95-110.

Tagami J, Tao L, Pashley DH, Hosoda H, Sano H. Effects of high-speed cutting on dentin permeability and bonding. *Dent Mater.* 1991 Oct;7(4):234-9.

Tao L, Pashley DH. Shear bond strengths to dentin: effects of surface treatments, depth and position. *Dent Mater.* 1988 Dec;4(6):371-8.

Tay FR, Pashley DH. Have dentin adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc.* 2003 Dec;69(11):726-31.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials.* 2007 Sep;28(26):3757-85. Epub 2007 May 7.

Van Meerbeek B, Vanherle G, Lambrechts P, Braem M. Dentin- and enamel-bonding agents. *Curr Opin Dent.* 1992 Mar;2:117-27.

Van Meerbeek B, Peumans M, Gladys S, Braem M, Lambrechts P, Vanherle G. Three-year clinical effectiveness of four total-etch dentinal adhesive systems in cervical lesions. *Quintessence Int.* 1996 Nov;27(11):775-84.

Van Meerbeek B, Perdigão J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent.* 1998 Jan;26(1):1-20.

Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent.* 2003 May-Jun;28(3):215-35.

Van Meerbeek B, Van Landuyt K, De Munck J, Hashimoto M, Peumans M, Lambrechts P, Yoshida Y, Inoue S, Suzuki K. Technique-sensitivity of contemporary adhesives. *Dent Mater J.* 2005 Mar;24(1):1-13.

Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010 Feb;26(2):e100-21.

Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent*. 2014 Jul;42(7):800-7.

Yoshida Y, Nagakane K, Fukuda R, Nakayama Y, Okazaki M, Shintani H, Inoue S, Tagawa Y, Suzuki K, De Munck J, Van Meerbeek B. Comparative study on adhesive performance of functional monomers. *J Dent Res*. 2004 Jun;83(6):454-8.

Yoshida Y, Yoshihara K, Nagaoka N, Hayakawa S, Torii Y, Ogawa T, Osaka A, Meerbeek BV. Self-assembled Nano-layering at the Adhesive interface. *J Dent Res*. 2012 Apr;91(4):376-81.

# ANEXOS

## ANEXO 1

Produtos	Composição
All-Bond Universal™ Adhesive (Bisco, Schaumburg, IL, USA)	10-MDP, BisGMA, HEMA, etanol, água e iniciadores.
Adper™ Scotchbond™ Multi-Purpose (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)	<p><u>Etchant</u></p> <p>- Gel de ácido fosfórico 35% reforçado com sílica amorfa</p> <p><u>Primer</u></p> <p>- Água (40-50%peso); - HEMA (35-45%peso); - Ácido policarboxílico.</p> <p><u>Bond</u></p> <p>- BisGMA (60-70%peso); - HEMA (30-40%peso); - Canforoquinona; - EDMAB; - DHEPT.</p>
ENAMEL Plus HRi (Micerium S.p.A. Avegno (GE) Italy)	Dimetacrilatos, vidro de bário, trifluoreto de itérbio, óxidos mistos, pré-polímeros, aditivos, catalizadores, estabilizadores, pigmentos

Tabela 5. Produtos e sua composição.



## ANEXO 2

Grupos	Dentes	Palitos			
		Perdidos	Falhas pré-teste	Testados	Total
ABU TE	1	5	1	17	23
	2	3	0	21	24
	3	4	0	19	23
ABU TE + A	1	3	4	23	30
	2	1	13	23	37
	3	2	0	32	34

Tabela 6. Palitos obtidos a partir de cada dente.

